DOI: 10.22067/jmme.2021.58903.0
سال سی و سه، شمارهٔ یک، ۱۴۰۰

سنتز و مطالعهٔ اثر pH بر فعالیت آنتی باکتریال نانوذرات ZnSe روی باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکولی و سودوموناس آئروژینوزا بااستفاده از زیست-آزمون انتشار دیسک*

مقاله پژوهشی

داریوش سوری[1] سعید محققنژاد[2] مهدی قبولی[3]

چکیده *در پژوهش حاضر، نانوذرات سلنید روی (ZnSe) به‌روش آبی در pHهای ۸، ۱۰/۲، ۱۱/۲ و ۱۲/۲ سنتز شده و توسط تابش امواج مایکروویو در مدت زمان‌های تابش صفر و شش دقیقه رشد یافتند. در فرایند سنتز، منابع یون‌های سلنیم و روی تهیه و در حضور تیوگلیکولیک اسید به‌عنوان عامل پوششی به هم افزوده شدند. خاصیت آنتی باکتریال این نانوذرات بااستفاده از زیست آزمون انتشار دیسک (در محیط کشت جامد مولر-هینتون- آگار) علیه باکتری‌های گرم منفی اشریشیا کولی و سودوموناس آئروژینوزا در حجم بارگذاری ۱۴۰ میکرولیتر از نانوذرات انجام شده‌است؛ نتایج نشان دادند که به‌طور کلی با افزایش زمان تابش از صفر به شش دقیقه منطقهٔ مهار رشد باکتری توسط نانوذرات در باکتری سودوموناس آئروژینوزا نسبت‌به باکتری اشـــریشـــیا کولی افزایش یافته‌اســـت؛ بیشـــترین فعالیت آنتی باکتریال به حالات ۱۱/۲ و pH=۱۰/۲ اختصـــاص دارد و این نمونه‌ها را می‌توان به‌عنوان مؤلفه‌های جدیدی در زمینهٔ کاربردهای نانو زیست- فناوری معرفی نمود.*

واژه‌های کلیدی باکتری گرم منفی، نانوذرات ZnSe، تابش مایکروویو، روش انتشاردیسک، خاصیت آنتی باکتریال.

مقدمه

فناوری نانو به‌دلیل قرارگیری در ابعاد و اندازه‌های نانومتری قادر به مطالعهٔ پدیده‌ها، مشخصه‌نگاری، طراحی و مهندسی نانوابزارها است. هم‌چنین بااستفاده از نانو بیوتکنولوژی امکان مطالعهٔ عملی روی نانوذرات مطالعه‌شده در سیستم‌های بیولوژیکی فراهم شده‌است و به‌دلیل اهمیت بالای آن همواره در حال گسترش می‌باشد [1]. مطالعات گسترده‌ای منبی‌بر واکنش‌های احتمالی بین نانوذرات با میکروارگانیسم‌های موجودات زنده انجام گرفته‌است. با جذب نانوذرات به سطح دیوارهٔ سلولی میکروارگانیسم، واکنش بین نانوذرات و میکروارگانیسم‌ها صورت می‌گیرد و باعث مرگ سلول‌های میکروارگانیسم می‌گردد. هم‌چنین احتمال داده می‌شود که یون‌های آزادشده از نانومواد با گروه‌های تیول (SH) پروتئین-های سطحی سلول‌های باکتریایی واکنش دهند. تعدادی از این پروتئین‌های غشای سلول‌های باکتریایی عمل انتقال مواد معدنی از سطح دیوارهٔ سلول را به‌عهده دارند، که نانو مواد با اثر برروی این پروتئین‌ها باعث غیرفعال شدن و نفوذناپذیری غشا می‌شوند [2]. غیرفعال شدن تراوایی غشا درنهایت باعث مرگ سلول می‌شود [3]. نانوذرات در دنیای فناوری امروزه و در حوزه‌های مختلف نقش‌های کاربردی فراوانی را کسب نموده‌اند. نقاط کوانتومی سلنید روی از جمله مهم‌ترین نقاط کوانتومی نیم‌رسانا است که دارای گاف انرژی پهن و مستقیم ۲/۷۲ الکترون ولت در حالت توده‌ای، و شعاع بوهر ۸ نانومتر در دمای اتاق می‌باشد. علاوه‌بر این نانوذرات سلنید روی به‌دلیل سمیت کم‌تر نسبت‌به نانوساختارهای کادمیومی، در

* تاریخ دریافت مقاله ۱۳۹۹/۴/۲ و تاریخ پذیرش آن ۱۴۰۰/۷/۳ می‌باشد.
(۱) نویسندهٔ مسئول، استاد، فیزیک ماده چگال، گروه فیزیک، دانشگاه ملایر.
(۲) دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه فیزیک، دانشگاه ملایر.
(۳) استادیار، دانشکدهٔ کشاورزی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه ملایر.
Email: d.souri@gmail.com

برچسب‌های زیستی کاربرد ویژه‌ای دارند [٤]. از اصلی‌ترین چالش‌های استفاده از نیم‌رساناهای توده‌ای، هزینهٔ بالای تهیهٔ مواد اولیه و هم‌چنین کارایی پایین آن‌هاست. باتوجه به قابلیت تنظیم گاف انرژی در نانوذرات نیم‌رسانا، تاحدودی می‌توان بر این مشکلات غلبه کرد؛ بنابراین روش فراوری این مواد از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است. روش‌های مختلفی ازجمله روش قوس الکتریکی، سل- ژل، احیای شیمیایی، سونو شیمی، هیدروترمال و... برای سنتز نانوذرات ZnSe وجود دارد [5]. به‌تازگی، نانوذرات نیم‌رسانا بااستفاده از روش آبی مایکروویو- همراه که یک روش جدید، سریع و کم‌هزینه، و جزء روش‌های پایین به بالای ترموشیمیایی محسوب می‌شود، سنتز می‌گردد. در این روش بااستفاده از گرمادهی مایکروویو امواج الکترومغناطیس به‌طور مستقیم با مولکول‌های موجود در محلول‌ها جفت می‌شود و منجر به افزایش سرعت انتقال حرارت و رشد نانوذرات می‌شود [6,7].

یک روش معمول مورد استفاده که در بسیاری از آزمایشگاه‌های میکروبیولوژیکی برای تست قابلیت آنتی باکتریال مواد استفاده می شود، روش زیست سنجی انتشار دیسک (Disc diffusion) در آگار است که در عین کم هزینه بودن به‌راحتی می‌توانند در آزمایشگاه ها مورد بهره‌برداری قرار گیرد [8]. در خصوص خاصیت آنتی باکتریال نانوذراتی از قبیل ZnS [۹]، ZnO [10] و.....گزارش‌هایی وجود دارد، اما درمورد خواص آنتی‌باکتریال نانوذرات ZnSe گزارش مدونی وجود ندارد. لازم به ذکر است که در کار حاضر نانوذرات سلنید روی به‌روش آبی در ۱۲/۲و۱۱/۲، ۱۰/۲، pH=۸ سنتز و تحت تابش مایکروویو (در زمان‌های مختلف صفر و شش دقیقه) رشد یافته‌اند و سپس با درنظر گرفتن ملاحظات نوری و ساختاری آن‌ها، خواص آنتی باکتریال این نانوذرات به‌روش انتشار دیسک روی باکتری‌های گرم منفی اشریشیاکولی و سودوموناس آئروژینوزا، مورد بررسی قرار گرفته‌اند.

روش تجربی

به‌منظور سنتز نانوذرات سلنید روی به‌روش آبی، ابتدا بااستفاده از واکنش بین پودر سلنیوم و پودر سدیم بوروهیدرید، منبع یون Se تهیه می‌شود و سپس بااستفاده از پودر استات روی حل‌شده در حجم ۱۵۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه، محلول حاوی منبع یون روی تهیه می‌شود. در این مرحله از تیوگلیکولیک اسید (TGA) به‌عنوان عامل پوششی و محلول سدیم هیدروکسید به‌عنوان تنظیم کنندهٔ pH استفاده می‌گردد. در نهایت محلول حاوی منبع یون روی (Zn)، قطره‌قطره به منبع یون سلنیوم (Se) تزریق می‌شود و نانوذرات سلنید روی ساخته می‌شوند. جزئیات بیشتر سنتز نانوذرات در مراجع [٤] و [5] آمده‌است.

در مرحلهٔ بعد، برای آشکار سازی فعالیت آنتی‌باکتریال نانوذرات سلنید روی روش انتشار دیسک در آگار انجام می شود. در روش انتشار دیسک در آگار، ابتدا برای ایجاد بستر کشت جامد، مقدار ٤/۲ گرم پودر مولر- هینتون براث (MHB) با ۳ گرم پودر آگار در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل می‌شود و محلول حاصل پس از استریل شدن در اتوکلاو به داخل پتریدیش‌هایی با اندازه‌های مساوی و به تعداد مورد نیاز در حجم‌های مساوی ریخته می‌شود. تمامی مقادیر طبق پروتکل شرکت سازنده اندازه‌گیری شده‌اند. سپس برای ایجاد نیم مک برای تلقیح پلیت آگار، مقدار ۱/۰۵ گرم پودر MHB را در۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل می‌کنند و در ادامه برای تهیهٔ سوسپانسون میکروبی بااستفاده از لوپ یک کولنی از هر سویه میکروبی به ۵ میلی‌لیتر محیط کشت (MHB +آب مقطر) اضافه می‌گردد. برای ایجاد نیم مک از استاندارد مک فارلند (Mc Farland) تنظیم‌شده با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ٦۳۰ نانومتر و میزان جذب باکتری‌ها در بازهٔ ۰/۱۳-۰/۰۸ استفاده شد. در ادامه سطح حاوی کشت جامد آگار استریل را با سوسپانسیون نیم مک

(اشرشیاکولی و سودوموناس آئروژینوزا) بااستفاده از سواب کشت چمنی داده می‌شود و سپس دیسک‌های کاغذیِ حاوی نانوذرات مورد بررسی (با حجم بارگذاری μ۱٤۰L) برروی سطح محیط کشت جامد آگار قرار داده می شود. در بخش آنتی‌باکتریال از نانوذراتی که در ابتدای کار به‌روش آبی در ۱۲/۲و۱۱/۲، ۱۰/۲، pH=۸ سنتز شدند و در داخل مایکروویو در زمان‌های۰ و ٦ دقیقه رشد یافتند، استفاده می‌شود. لازم به ذکر است هر آزمایش نانوذره ۳ بار تکرار می‌شود تا روند منطقی و قابل قبولی از منظر آماری وجود داشته باشد. هم‌چنین پلیت‌ها به‌مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه گردید. درنهایت میزان اثر pH محلول نانوذرات سلنید روی در زمان تابش‌های مختلف مایکروویو صفر و شش دقیقه بر قطر هالهٔ ممانعت از رشد باکتری های گرم منفی مشخص گردید.

بحث و نتایج

نتایج مشخصه‌نگاری نوری و ساختاری نانوذرات سلنید روی

باتوجه به گزارش‌های قبلی [٤] و [5]، اطلاعات کامل اندازهٔ نانوذرات سلنید روی به‌دست‌آمده از طیف پراش پرتو ایکس نمونه‌های مورد بررسی در ۱۲/۲ و ۱۱/۲ و ۱۰/۲ و pH=۸ و در زمان‌های تابش مایکروویو صفر و شش دقیقه در جدول (۱) آمده‌است. گزارش شده‌است که افزایش pH و زمان تابش مایکروویو روی ساختار کلی بلوری نانوذرات سلنید روی اثری ندارد و صرفاً تغییر اندازهٔ نانوذرات با تغییر شرایط سنتز هر نمونه مشهود است. هم‌چنین بااستفاده از رابطهٔ شرر [11] می‌توان اندازهٔ نانوذرات را به‌دست آورد و باتوجه به داده‌های گزارش‌شده در جدول (۱) مشاهده می‌شود با افزایش زمان تابش، اندازهٔ نانوذرات بزرگ‌تر می‌شود ولی با افزایش pH نمی‌توان روندی را برای اندازهٔ نانوذرات تعریف کرد.

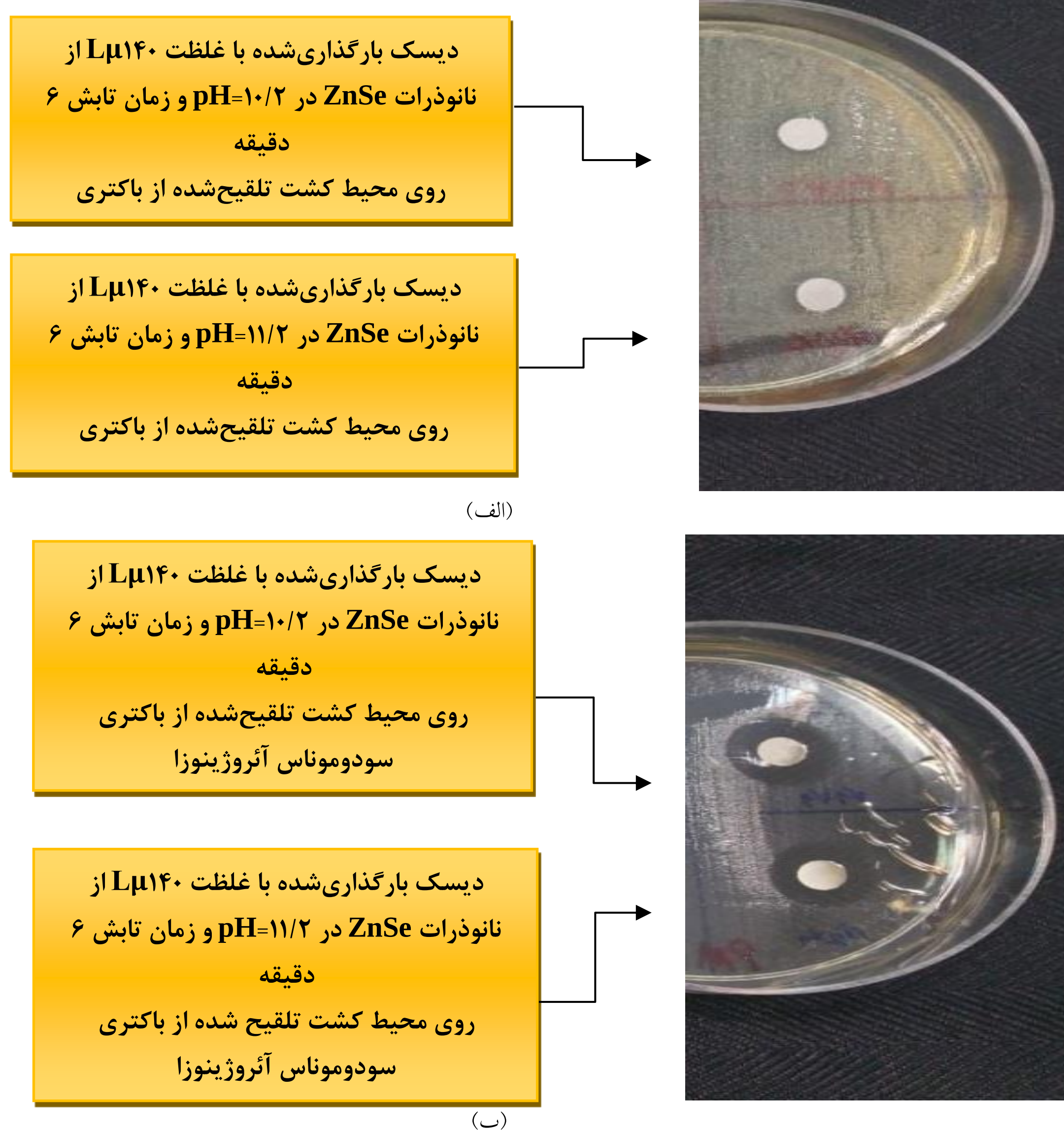
هم‌چنین طیف جذب الکترومغناطیس در گسترهٔ فرابنفش- مرئی برای نانوذرات نیم‌رسانای سلنید روی به‌منظور مطالعهٔ خواص نوری استفاده شده‌است. جدول (۱) داده‌های گزارش‌شدهٔ قبلی [٤] را برای گاف انرژی و اندازهٔ نانوذرات با بهره‌گیری از تقریب جرم مؤثر [12] برای نمونه‌های با شرایط سنتز و رشددهی مختلف نشان می‌دهد. باتوجه به جدول (۱)، مشاهده می‌گردد که با افزایش مقدار pH، لبهٔ جذب به‌سمت طول موج‌های بلندتر جابه‌جا می‌شود. هم‌چنین باتوجه به گزارش‌های موجود [٤]، این روند برای افزایش زمان تابش مایکروویو نیز صادق است. نتایج اندازهٔ نانوذرات با بهره‌گیری از داده‌های گاف انرژی توده‌ای سلنید روی و گاف نانوذرات (گزارش‌شده در جدول ۱)، مؤید روند معکوس آن نسبت‌به گاف نانوذرات می‌باشد و این اندازه‌ها در مرتبهٔ اندازه‌های گزارش‌شده از رابطهٔ شرر می‌باشند.

جدول ۱ نتایج مربوط به ملاحظات نوری و اندازهٔ ذرات نانوبلورهای سلنیدروی سنتزشده در این پژوهش [٤]

نمونهٔ ZnSe	زمان تابش مایکروویو شش دقیقه				زمان تابش مایکروویو صفر دقیقه			
	pH=۱۲/۲	pH=۱۱/۲	pH=۱۰/۲	pH=۸	pH=۱۲/۲	pH=۱۱/۲	pH=۱۰/۲	pH=۸
اندازهٔ ذرات از رابطهٔ شرر	۲/۱۸۰	۲/۱٤۲	۱/۹۹۳	۲/۰٤۸	۱/۷۷۳	۱/۹٤۲	۱/٤۹٦	۱/۷۳٦
$E_{gap}^{DASF}(eV)$	۳/٤۸۸	۳/۵۰۰	۳/۵۲۹	۳/۵۷۷	۳/۷۲۰	۳/٦۵۲	۳/٦۵۵	۳/۷۲۱
اندازهٔ نانوذرات (نانومتر) در تقریب جرم مؤثر	۱/۷۵۱	۱/۷۳۸	۱/۷۰۷	۱/٦۵۱	۱/۵۳۹	۱/۵۹۳	۱/۵۹۱	۱/۵۳۹

زیست‌آزمون خاصیت آنتی‌باکتریایی نانوذرات سلنید روی علیه باکتری‌های گرم منفی اشرشیا کولی و سودوموناس آئروژینوزا به‌روش انتشار دیسک

قبل از تلقیح باکتری و انجام زیست‌آزمون نانوذرات، تست‌های کنترل مثبت و منفی به‌ترتیب به‌منظور اعتبارسنجی صحت عملکرد باکتری و استریل بودن نانوذرات انجام شده‌است. شکل (۱- الف و ب) به‌صورت نوعی هالهٔ ممانعت از رشد باکتری اشرشیاکولی و سودوموناس آئروژینوزا را در اطراف دیسک‌های بارگذاری‌شده از نانوذرات سلنید روی با حجم ۱٤۰ میکرولیتر در pH=۱۰/۲و۱۱/۲ و زمان تابش ٦ دقیقه نشان می‌دهد، که مؤید ایجاد هالهٔ واضح ممانعت از رشد برروی محیط کشت مولر- هینتون آگار در اطراف دیسک واتمن می‌باشد.

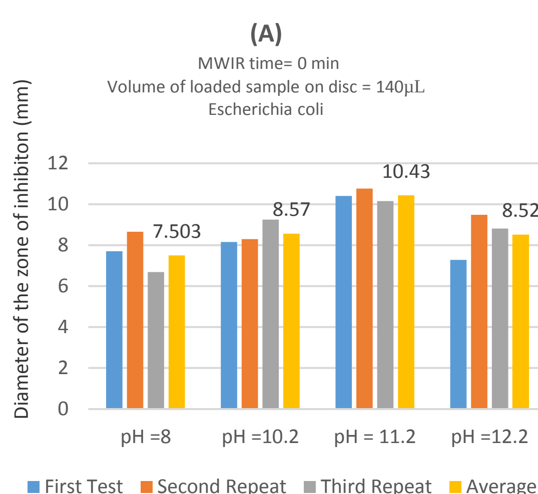


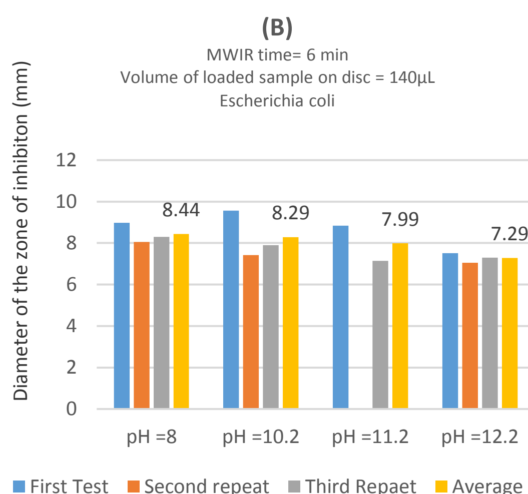
شکل ۱ (الف) تصویر نوعی منطقهٔ مهار رشد باکتری اشرشیاکولی در اطراف دیسک‌های بارگذاری‌شده با غلظت ۱٤۰ میکرولیتر از حجم نانوذرات سلنید روی با pH=۱۰/۲و۱۱/۲ در زمان تابش ٦ دقیقه، (ب) تصویر نوعی منطقهٔ مهار رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا در اطراف دیسک‌های بارگذاری شده با غلظت ۱٤۰ میکرولیتر از حجم نانوذرات سلنید روی با pH=۱۰/۲و۱۱/۲ در زمان تابش ٦ دقیقه

جدول (۲) جزئیات نمونه ها، باکتری ها و اندازه های قطر هاله‌های ممانعت از رشد را نشان می‌دهد. طبق داده‌های این جدول، شکل (۲) نمودار هیستوگرام فعالیت ضد باکتری نانوذرات علیه باکتری اشـرشـیاکولی را نشـان می‌دهد. طبق نمودار ۲-A، با افزایش مقدار pH از ۸ تا ۱۱/۲ و در زمان تابش مایکروویو صـــفر دقیقه، خاصـــیت آنتی باکتر یال نانوذرات نیز افزایش می یابد و بیشـــترین هالهٔ ممانعت از ر شد باکتری ا شر شیاکولی در pH=۱۱/۲ م شاهده می گردد. این در حالی اســـت که با افزایش مقدار pH به ۱۲/۲، این رونـد ادامـه نمی‌یـابـد. همچنین بـا افزایش زمـان تـابش مایکروویو از صفر به شش دقیقه، طبق نمودار ۲-B شاهد کاهش مقدار نفوذپذیری نانوذرات با افزایش مقدار pH از ۸ تا ۱۲/۲ می‌با شیم. می‌توان نتیجه گرفت که با ر شد نانوذرات و افزایش م قادیر pH، میزان نفوذ پذیری آن ها به دیوارهٔ سلولی باکتری اشرشیاکولی کاهش یافته‌است.

جدول ۲ شعاع هالهٔ عدم رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس در حضور نانوذرات سلنید روی با غلظت بارگذاری برابر ۱۴۰ میکرولیتر در ۱۲/۲ و ۱۱/۲، ۱۰/۲، pH=۸ و زمان‌های تابش مایکروویو صفر و شش دقیقه

نمونهٔ ZnSe		شعاع هالهٔ عدم رشد باکتری‌های گرم مثبت مورد آزمون (mm)							
		زمان تابش مایکروویو صفر دقیقه				زمان تابش مایکروویو صفر دقیقه			
		pH=۸	pH=۱۰/۲	pH=۱۱/۲	pH=۱۲/۲	pH=۸	pH=۱۰/۲	pH=۱۱/۲	pH=۱۲/۲
باکتری اشرشیاکولی	تکرار اول	۷/۱۶	۸/۱۶	۱۰/۴۰	۷/۲۹	۸/۹۸	۹/۵۶	۸/۸۴	۷/۵۲
	تکرار دوم	۸/۶۶	۸/۳۰	۱۰/۷۶	۹/۴۸	۸/۰۶	۷/۴۲	–	۷/۰۵
	تکرار سوم	۶/۶۹	۹/۲۵	۱۰/۱۵	۸/۸۱	۸/۳۰	۷/۹۰	۷/۱۵	۷/۳۰
میانگین قطر هالهٔ عدم رشد		۷/۵۰	۸/۵۷	۱۰/۴۳	۸/۵۲	۸/۴۴	۸/۲۹	۷/۹۹	۷/۲۹
باکتری سودوموناس آئروژینوزا	تکرار اول	۹/۴۷	۱۰/۷۴	۹/۸۵	۷/۶۲	۷/۶۸	۱۴/۶۳	۱۳/۰۹	–
	تکرار دوم	۷/۹۲	۸/۸۱	۱۱/۳۲	۹/۵۴	۸/۰۵	۱۲/۳۱	–	–
	تکرار سوم	۷/۴۲	۸/۸۳	۸/۸۷	۷/۵۷	۷/۷۲	۱۱/۷۲	۱۰/۰۷	۱۰/۸۸
میانگین قطر هاله عدم رشد		۸/۲۷	۹/۴۶	۱۰/۰۱	۸/۲۴	۷/۸۱	۱۲/۸۸	۱۱/۵۸	۱۰/۸۸





شکل ۲ نمودار مقایسه‌ای میزان حساسیت آنتی باکتریایی نانوذرات رشدیافته در ۱۲/۲و۱۱/۲، ۱۰/۲، pH=۸ در حجم بارگذاری نانوذرات ۱۴۰ میکرومتر علیه باکتری اشرشیاکولی، (A) برای زمان تابش مایکروویو صفر دقیقه، (B) برای زمان تابش مایکروویو شش دقیقه



شکل ۳ نمودار مقایسه‌ای میزان حساسیت آنتی باکتریایی نانوذرات رشدیافته در ۱۲/۲و۱۱/۲، ۱۰/۲، pH=۸ در حجم بارگذاری نانوذرات ۱۴۰ میکرومتر علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا، (A) برای زمان تابش مایکروویو صفر دقیقه، (B) برای زمان تابش مایکروویو شش دقیقه

طبق شکل (۳- A و B)، در زمان تابش مایکروویو صفر دقیقه با افزایش مقدار pH از ۸ تا ۱۱/۲، خاصیت آنتی‌باکتریایی نانوذرات در ممانعت از رشد باکتری سودوموناس آئروژینوزا نیز افزایش یافته‌است اما این روند با افزایش pH به مقدار ۱۲/۲ دیده نمی‌شود. با افزایش زمان تابش مایکروویو از صفر به شش دقیقه، به‌طور کلی خواص آنتی باکتریایی نانوذرات سلنید روی در ۱۲/۲و۱۱/۲، pH=۱۰/۲ نسبت‌به زمان تابش صفر دقیقه افزایش یافته‌است. می‌توان نتیجه گرفت خواص آنتی باکتریال نانوذرات سلنید روی در غلظت ۱۴۰ میکرولیتر علیه مقاومت باکتری سودوموناس آئروژینوزا عموماً با افزایش اندازهٔ نانوذرات افزایش می‌یابد و بیشترین تأثیر باکتری‌کشی مربوط به pH=۱۰/۲ و زمان تابش ٦ دقیقه با شعاع هالهٔ ۱۲/۸۸میلی‌متر می‌باشد که به‌تدریج با افزایش اندازهٔ نانوذرات خاصیت آنتی باکتریایی نانوذرات علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا کاهش یافته‌است. لازم به ذکر است که انتظار می‌رود با افزایش اندازهٔ نانوذرات و کاهش احتمال نفوذ آن‌ها به دیوارهٔ سلولی باکتری‌ها، قطر هاله‌های عدم رشد باکتری کاهش یابد؛ اما باید توجه داشت که رشد باکتری‌ها به pH محیط کشت مولر- هینتون- آگار و شرایط محیطی نیز به‌شدت وابسته است [13-16].

نتیجه‌گیری

ارزیابی نتایج زیست‌آزمون انتشار دیسک نانوذرات سلنید روی سنتزشده در pHهای مختلف و در دو زمان تابش مایکروویو صفر و شش دقیقه علیه باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکولی، سودوموناس آئروژینوزا حاکی از حساسیت به قطر نانوذرات است. همچنین اثر خواص آنتی باکتریایی نانوذرات برروی هر دو باکتری مورد بررسی متفاوت بوده و به‌طور کلی خاصیت آنتی باکتریال نانوذرات روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا بیشتر بوده‌است که این موضوع را می‌توان باتوجه به ساختار دیوارهٔ سلولی باکتری‌های مورد آزمایش توجیه کرد. به‌طورکلی می‌توان نتیجه گرفت که ویژگی ضد باکتری نانوذرات مطالعه‌شده، آن‌ها را به‌عنوان گزینه‌های مناسبی در کاربردهای زیستی و پزشکی معرفی می‌کند.

قدردانی

از حمایتهای دانشگاه ملایر و همچنین از سرکار خانم دکتر حدیث طوافی به پاس در اختیار قراردادن باکتری‌های مورد استفاده در این آزمایش تشکر و قدردانی می‌گردد.

مراجع

1. Sriram, M. I., Kalishwaralal, K., Barathmanikanth, S., Gurunathani, S., "Size-Based Cytotoxicity of Silver Nanoparticles in Bovine Retinal Endothelial Cells", *Nanoscience Methods*, Vol. 1, No. 1, pp. 56-77, (2012).
2. Selvam, S., Gandhi, R. R., Suresh, J., Gowri, S., Ravikumar, S., Sundrarajan, M., "Antibacterial Effect of Novel Synthesized Sulfated β-Cyclodextrin Crosslinked Cotton Fabric and its Improved Antibacterial Activities with ZnO, TiO_2 and Ag Nanoparticles Coating", *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 434, No. 1-2, pp. 366-374, (2012).
3. Ghaznavi-Rad, E., Shamsudin, M. N., Sekawi, Z., Khoon, L. Y., Aziz, M. N., Hamat, R. A., Neela, V., "Predominance and Emergence of Clones of Hospital-Acquired Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Malaysia", *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 48, No. 3, pp. 867-872, (2010).
٤. احمدیان، کبری. ، "اثر pH و زمان تابش بر خواص نوری و ســاختاری نانوبلورهای ZnSe ســنتزشــده به‌روش تابش مایکروویو"، پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد فیزیک حالت جامد، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه ملایر، (۱۳۹٦).
5. Souri, D., Sarfehjou, M., Khezripour, A. R., "The effect of ambient Temperature on the Optical Properties and Crystalline Quality of ZnSe and ZnSe: Cu NCs Grown by Rapid Microwave Irradiation", *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, Vol. 29, pp. 3411–3422, (2018).
6. Hopfield, J. J., "Theory of the Contribution of Excitons to the Complex Dielectric Constant of Crystals", *Physical Review*, Vol. 112, No. 5, pp.1555-1561, (1958).
7. Jiang, X., Xie, Y., Lu, J., Zhu, L., He, W., Qian, Y., "Simultaneous in Situ Formation of ZnS Nanowires in a Liquid Crystal Template by γ-irradiation", *Chemistry of Materials*, Vol. 13, No. 4, pp. 1213-1218, (2001).
8. Driscoll, A. J., Bhat, N., Karron, R. A., O’Brien, K. L., Murdoch, D. R., "Disk Diffusion Bioassays for the Detection of Antibiotic Activity in Body Fluids: Applications for the Pneumonia Etiology Research for Child Health Project", *Clinical Infectious Diseases*, Vol. 54, pp.159-164, (2012).
9. Kwamboka, B., Omwoyo, W., Oyaro, N., "Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of ZnS Nanoparticles", *Indian Journal of Nanoscience*, Vol. 4, No. 2, pp. 1-6, (2016).
10. Jafari, A., Ghane, M., Arastoo, S., "Synergistic Antibacterial Effects of Nano Zinc Oxide Combined with Silver Nanocrystals", *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 5, pp. 5465-5473, (2011).
11. Edwards, A. J., Klug, H. P., Alexander, L. E., "X-Ray Diffraction Procedures for Polycrystalline and Amorphous Materials", *Wiley-Interscience, New York, 2nd Edn.*, pp. 966-983, (1975).
12. Singh, A. K. Viswanath, V. Janu, V. C., "Synthesis, Effect of Capping Agents, Structural, Optical and Photoluminescence Properties of ZnO Nanoparticles", *Journal of Luminescence*, Vol. 129, No. 8, pp.874-878, (2009).
13. Gilbert, R. J., "Bacillus Cereus", In H. Riemann and F. L., Bryan (Eds), "Food-borne Infections and Intoxications", 2nd Ed, Academic Press, New York, pp. 495–514. (1979).
14. Griffiths, M. W., Schraft, H., "Bacillus Cereus Food Poisoning", In Cliver, D.O., Riemann, H.P. (Eds.),

"Foodborne Diseases", 2nd Ed, Academic Press, New York, NY., pp. 261–270, (2002).

15. Schraft, H., Griffiths, M.W., "Bacillus Cereus Gastroenteritis", *In* H. Riemann and D.O. Cliver (Eds). "Foodborne Infections and Intoxications", 3rd Ed, Academic Press, New York, NY., pp. 561–582. (2006).
16. Wijnands, L. M., Dufrenne, J. B., Zwietering, M. H., van Leusden, F. M., "Spores from Mesophilic Bacillus Cereus Strains Germinate Better and Grow Faster in Simulated Gastro-Intestinal Conditions than Spores from Psychrotrophic Strains", *International Journal of Food Microbiology 112,* pp.120–128, (2006).